

ВЭЖХ-МС АНАЛИЗ ДОФАМИНА И ОКТОПАМИНА.

¹*А.А. Алексеев*, ²*В.Г. Васильев*

1 - Институт химической кинетики и горения СО РАН, ул. Институтская 3,
Новосибирск, 630090 alekseev@kinetics.nsc.ru

2 - Новосибирский институт органической химии СО РАН, пр. Лаврентьева 9,
Новосибирск, 630090

Традиционным методом количественного определения биогенных аминов, в том числе дофамина (ДА) и октопамина (ОА), в биологических образцах является ВЭЖХ с использованием электрохимических детекторов. Эти биогенные амины являются одними из ключевых нейромедиаторов и нейрогормонов насекомых, участвующих в стресс-реакции. Корректное определение их концентраций у насекомых осложняется наличием большого разнообразия электрохимически активных метаболитов, плохо разделяющихся даже при ион-парной ВЭЖХ. Так, в литературе разные авторы приводят данные по количеству ОА у одного и того же объекта (имаго дрозофилы линии CS), различающиеся в 2-5 раз.

По литературным данным, при использовании наиболее чувствительного вида ВЭЖХ-МС (тройного квадруполь), проводят количественное определение ДА и ОА в нервных тканях и биологических жидкостях позвоночных при концентрациях порядка 5-10 нг/мл.

Оптимизируя условия хроматографического разделения и масс-детектирования на имеющемся у нас оборудовании (жидкостной хроматограф Agilent 1200 с квадруполь-времяпролётным масс-детектором micrOTOF-Q фирмы Bruker), мы добились надёжного определения октопамина и дофамина на уровне 40 нг/мл. Разделение проводилось на колонке Atlantis dC18. Изократический режим, в системе формиатный буфер : вода (1:9, v/v). Пробоподготовка проводилась с использованием твердофазной экстракции (Oasis MCX, Waters).

Генерирование положительных ионов проводилось с помощью электро-статического распыления (ESI). Рабочие параметры масс-детектора: поток газа осушителя 7 л/мин; его температура - 260°C ; давление на распылителе – 2.0 bar.

Для регистрации октопамина и дофамина использовали интегрирование извлеченных ионных хроматограмм соответствующих протонированным формам этих соединений и их основным осколкам (154.087 и 136.076 для ОА; 154.087 и 137.060 для ДА).

Работа поддержана грантами РФФИ 10-04-01462, 10-04-10072, 12-04-00065